

氏 名	啓 航
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	学 術
学位授与番号	博甲第4232号
学位授与の日付	平成22年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Functional Characteristics of Artificial Food Colorants and Their Interaction with Antioxidants (合成食用色素の機能特性と抗酸化剤との相互作用)
論文審査委員	准教授 中村 宜督    教授 村田 芳行    教授 木村 吉伸

#### 学位論文内容の要旨

In the present study, the photocytotoxicity as well as antioxidant property of fluorescein-type artificial colorants was examined using human leukemia HL-60 and Jurkat cells to demonstrate their medicinal potentials. I also addressed the mechanism of PhB-induced photocytotoxicity and apoptosis in both cells by pharmacological experiments using antioxidants or inhibitors of signal transduction. Consequently I found intracellular and extracellular oxidative stress were involved in PhB-induced photocytotoxicity in Jurkat cells and HL-60 cells, respectively. In addition, inhibitory effect of fluorescein-type colorants on superoxide production was also examined.

This study suggests that (1) extracellular hydrogen peroxide production and myeloperoxidase, specially presented in neutrophils, may play an important role in PhB-induced photocytotoxicity in HL-60 cells; (2) intracellular oxidative stress is involved in JNK-dependent INF- $\gamma$  gene expression, both of which contribute to PhB-induced photocytotoxicity in Jurkat cells; (3) food-derived antioxidants can modulate PhB-induced photoreactive events, but some radical scavengers oppositely enhance the Type-I photodynamic reaction dependently on their concentrations; (4) EGCG positively regulates PhB-induced prooxidative events; (5) fluorescein-type food colorants also act as inhibitors of superoxide production under the dark condition. Therefore, the redox-sensitive signaling pathways can be modulated by artificial food colorants or their combination with the antioxidants. Taken together, this study provides biological evidences that fluorescein-type food colorants have significant biological activities to show anti-cancer and cancer chemopreventive effects.

## 論文審査結果の要旨

食品の色彩は二次機能（嗜好性）の重要な指標の一つであることから、加工食品には様々な天然色素及び合成食用色素が用いられている。合成食用色素は、天然色素と比べて鮮やかな色調と優れた耐久性を持っているが、安全性が証明されているにも関わらず、安全性に対するイメージが極めて悪い。従って、合成食用色素の医薬的利用を視野に入れた生理活性に関する研究例は多くない。そこで、本論文では合成食用色素の生理機能特性を明らかにする目的で、1) 前骨髄性及びTリンパ球性白血病由来細胞株に対する合成食用色素（phloxine B、PhB）の光依存性細胞死誘導作用、2) 合成食用色素の生理機能発現メカニズムの細胞種特異的な差異、3) 食品中に含まれる抗酸化物質と合成食用色素との機能的相互作用、4) 合成食用色素のスーパーオキシド産生阻害を介した抗酸化作用を、合成食用色素の化学的特性を考慮しながら明らかにしようとしている。

まず、前骨髄性白血病由来HL-60細胞、Tリンパ球性白血病由来Jurkat細胞を用いて、日常光照射条件でのPhB処理による細胞生存率の変化を調べた。その結果、PhBはいずれの細胞においても光依存性アポトーシスを誘導したが、感受性はHL-60細胞の方が高かった。また、HL-60細胞に対する光細胞毒性は、カタラーゼやメチオニン共処理によって解除されたことから、光照射されたPhBが培地中に過酸化水素を生成し、細胞内に拡散した過酸化水素がさらにmyeloperoxidaseにより次亜塩素酸に変換される経路の関与が示唆された。一方、Jurkat細胞においては、PhBは細胞内において活性酸素種を生成し、さらにc-Jun-N-terminal kinase／interferon- $\gamma$ 経路の活性化を促すことがアポトーシス誘導に大きく貢献していることを、特異的阻害剤を用いて明らかにした。

さらに、PhBを抗酸化性食品成分と組合せることで、PhBの生理活性を濃度依存的に修飾できることや、暗条件下ではスーパーオキシドを捕捉することで抗酸化作用を示すことを明らかにし、合成食用色素の新しい機能特性を示している。

本研究内容は、学術的な価値のみならず、実用に結びつく技術の礎となるものであり、本審査委員会は、本論文が博士（学術）の学位論文に値するものと判断した。